

? S PN=DE 19834591
S5 1 PN=DE 19834591
? T 5/3,AB/1

5/3,AB/1
DIALOG(R)File 351:Derwent WPI
(c) 2004 Thomson Derwent. All rts. reserv.

012990264
WPI Acc No: 2000-162116/*200015*
XRAM Acc No: C00-050845

Use of substances that decrease the activity of dipeptidyl peptidase IV
to increase blood sugar levels, e.g. for treating hypoglycemia
Patent Assignee: PROBIODRUG GES ARZNEIMITTELFORSCHUNG MBH (PROB-N); DEMUTH
H (DEMU-I); HOFFMANN T (HOFF-I); KUHN-WACHE K (KUHN-I); ROSCHE F (ROSC-I)
; PROBIODRUG (PROB-N)
Inventor: DEMUTH H; HOFFMANN T; KUEHN-WACHE K; ROSCHE F; KUHN-WACHE K
Number of Countries: 026 Number of Patents: 004
Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
DE 19834591	A1	20000203	DE 1034591	A	19980731	200015 B
EP 995440	A1	20000426	EP 99115236	A	19990802	200025
US 6319893	B1	20011120	US 99365404	A	19990802	200174
US 20020071838	A1	20020613	US 99365404	A	19990802	200243
			US 2001682968	A	20011102	

Priority Applications (No Type Date): DE 1034591 A 19980731

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan	Pg	Main IPC	Filing Notes
DE 19834591	A1		7	A61K-038/55	
EP 995440	A1	G		A61K-031/425	
Designated States (Regional): AL AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT					
LI LT LU LV MC MK NL PT RO SE SI					
US 6319893	B1			A01N-037/18	
US 20020071838	A1			A61K-038/47	Div ex application US 99365404

Abstract (Basic): *DE 19834591* A1

Abstract (Basic):

NOVELTY - The use of substances (I) that decrease the activity of dipeptidyl peptidase IV (DP IV) to increase blood sugar levels above the glucose concentration characteristic of hypoglycemia in the serum of mammals.

ACTIVITY - Antidiabetic.

MECHANISM OF ACTION - Inhibitor of glucagon degradation by DP IV.

USE - (I) are useful for increasing blood sugar levels by inhibiting the degradation of glucagon (endogenous or administered) by DP IV (dipeptidyl peptidase IV) and can therefore be used for treating metabolic disorders caused by subnormal glucose levels, especially hypoglycemia associated with diabetes.

ADVANTAGE - Only small amounts of (I) are required to protect glucagon from rapid proteolytic degradation by DP IV.

pp; 7 DwgNo 0/4

THIS PAGE BLANK (USPTO)



⑮ **BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND**



**DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT**

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 198 34 591 A 1**

⑤ Int. Cl.⁷:
A 61 K 38/55

⑲ Aktenzeichen: 198 34 591.7
⑳ Anmeldetag: 31. 7. 1998
㉓ Offenlegungstag: 3. 2. 2000

DE 198 34 591 A 1

- ⑦① **Anmelder:**
Probiodrug Gesellschaft für Arzneimittelforschung
mbH, 06120 Halle, DE
- ⑦④ **Vertreter:**
Boeters & Bauer, 81541 München
- ⑦② **Erfinder:**
Demuth, Hans-Ulrich, Dr., 06114 Halle, DE;
Hoffmann, Torsten, Dr., 06114 Halle, DE;
Kühn-Wache, Kerstin, 06114 Halle, DE; Rosche,
Fred, Dr., 06184 Dieskau, DE

- ⑤⑥ **Entgegenhaltungen:**
DE 196 16 486 A1
Datenbank Embase über STN bei FIZ Karlsruhe,
ben.
am 26.06.99:
1999036714 Embase (Abstract zu: On the treatment
of diabetes mellitus with glucagon-like peptide-1,
Holst J.J., Deacon C., Toft-Nielsen M.-B., Bjerre-
Knudsen L., Annals of the New York Academy of
sciences, (1998) 865/- (336-343));
1998147244 Embase (Abstract zu: Dipeptidyl pep-
tidase IV inhibition potentiates the insulinotropic
effect of glucagon-like peptide 1 in the anesteti-
zied pig, Deacon C.F., Hughes T.E., Hoist J.J.,
Diabetes, (1998) 47/5 (764-769));
1998055890 Embase (Abstract zu: Glucagon-like
pep-
tides, Drucker D.J. Diabetes, (1998) 47/2 (159-
169));

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤④ **Verfahren zur Steigerung des Blutglukosespiegels in Säugern**

- ⑤⑦ Die Erfindung beinhaltet die Anwendung eines Verfah-
rens, bei dem durch die Reduktion von Dipeptidyl Pepti-
dase (DP IV-) bzw. DP IV-analoger Enzymaktivität im Blut
eines Säugers durch Verabreichung von aktivitätsmin-
dernden Effektoren, in kausaler Folge das endogene (oder
zusätzlich exogen verabreichte) glycogenolytisch wirksa-
me Peptid Glucagon oder derselben Analoga durch DP IV-
und DP IV-ähnliche Enzyme vermindert abgebaut werden
und damit die Konzentrationsabnahme dieses Peptidhor-
mons bzw. seine Analoga verringert bzw. verzögert wird.
In Folge dieser, durch die Wirkung von DP IV-Effektoren
erzielten, erhöhten Stabilität des (endogen vorhandenen
oder exogen zugeführten) Glucagons und seiner Analoga,
die damit vermehrt für die glycogenolytische Stimu-
lierung der Glucagon-Rezeptoren von insbesondere Le-
berzellen zur Verfügung stehen, verändert sich die Wirk-
samkeitsdauer von körpereigenem Glucagon, was eine
Stimulierung des Kohlehydratstoffwechsels des behan-
delten Organismus nach sich zieht.
Als Resultat steigt der Blutzuckerspiegel über die für Hy-
poglycaemie charakteristische Glukosekonzentration im
Serum des behandelten Organismus. Damit können
Stoffwechselanomalien, wie hypoglycaemische Zustän-
de, die die Folge verminderter Glukosekonzentrationen
im Blut sind, verhindert bzw. gemildert werden.
Das erfindungsgemäße Verfahren stellt eine neuartige
Herangehensweise zur Steigerung der endogenen Blut-
glukosekonzentration dar. Es ist einfach, kommerziell
nutzbar und zur ...

DE 198 34 591 A 1

Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein einfaches Verfahren, bei dem durch die Reduktion von Dipeptidyl Peptidase (DP IV-) bzw. DP IV-analoger Enzymaktivität im Blut eines Säugers durch Verabreichung von aktivitätsmindernden Effektoren, in kausaler Folge das endogene (oder zusätzlich exogen verabreichte) glycogenolytisch wirksame Peptid Glucagon oder dessen Analoga durch DP IV- und DP IV-ähnliche Enzyme vermindert abgebaut werden und damit die Konzentrationsabnahme dieses Peptidhormons bzw. seiner Analoga verringert bzw. verzögert wird.

In Folge dieser, durch die Wirkung von DP IV-Effektoren erzielten, erhöhten Stabilität des (endogen vorhandenen oder exogen zugeführten) Glucagons und seiner Analoga, die damit vermehrt für die glycogenolytische Stimulierung der Glucagon-Rezeptoren von insbesondere Leberzellen zur Verfügung stehen, verändert sich die Wirkamkeitsdauer von körpereigenem Glucagon, was eine Stimulierung des katabolen Kohlehydratstoffwechsels des behandelten Organismus nach sich zieht.

Als Resultat steigt der Blutzuckerspiegel über die für Hypoglycaemie charakteristische Glukosekonzentration im Serum des behandelten Organismus. Damit können Stoffwechselanomalien wie hypoglycaemische Zustände, die die Folge verminderter Glukosekonzentrationen im Blut sind, verhindert bzw. gemildert werden.

Neben Proteasen, die in unspezifische Proteolyse einbezogen sind, was letztlich den Abbau von Proteinen zu Aminosäuren bewirkt, kennt man regulatorische Proteasen, die an der Funktionalisierung (Aktivierung, Deaktivierung, Modulation) von endogenen Peptidwirkstoffen beteiligt sind (Kirschke et al., 1995; Kräusslich & Wimmer, 1987). Insbesondere im Zusammenhang mit der Immunforschung und der Neuropeptidforschung sind eine Reihe solcher sogenannten Konvertasen, Signalpeptidasen oder Enkephalinasen entdeckt worden (Gomez et al., 1988; Ansorge et al., 1991).

Aufgrund der Häufigkeit des Vorkommens der Aminosäure Prolin in einer Vielzahl von Peptidhormonen und den damit verbundenen Struktureigenschaften dieser Peptide wird für prolinspezifische Peptidasen eine den Signalpeptidasen analoge Funktion diskutiert (Yaron & Naider, 1987; Walter et al., 1980; Vanhoof et al., 1995). Dabei bestimmt Prolin in diesen Peptiden durch seine besondere Struktur sowohl Konformation als auch Stabilität dieser Peptide, indem sie vor Abbau durch unspezifische Proteasen schützt (Kessler, 1982).

Enzyme, die dagegen hochspezifisch strukturverändernd auf Prolin-haltige Sequenzen einwirken (HIV-Protease, Cyclophillin u. a.) sind attraktive Ziele der aktuellen Wirkstoff-Forschung. Insbesondere für die nach dem Prolin spaltenden Peptidasen Prolyl Endopeptidase (PEP) und Dipeptidyl Peptidase IV (DP IV) konnten Beziehungen zwischen der Modulation der biologischen Aktivität von natürlichen Peptidsubstraten und deren selektiver Spaltung durch diese Enzyme wahrscheinlich gemacht werden. So nimmt man an, daß PEP eine Rolle beim Lernen bzw. im Gedächtnisprozeß spielt und DP IV in die Signalübertragung während der Immunantwort einbezogen ist (Ishiura et al., 1990; Hegen et al., 1990).

Ähnlich wie die außerordentliche Prolinspezifität dieser Enzyme wird ihre hohe Selektivität für die Aminosäure Alanin innerhalb typischer Erkennungsregionen in Substraten dieser Enzyme diskutiert, wonach Alanin-haltige Peptide ähnliche Konformationen einnehmen können wie strukturanaloge Prolin-haltige Peptide. Kürzlich wurden derartige Eigenschaften Alaninhaltiger Peptidketten durch Punktmutation (Austausch von Prolin gegen Alanin) nachgewiesen (Dodge & Scheraga, 1996).

DP IV- bzw. DP IV-analoge Aktivität (z. B. besitzt die cytosolische DP II eine der DP IV nahezu identische Substratspezifität) kommt im Blutkreislauf vor, wo sie hochspezifisch Dipeptide vom N-Terminus biologisch aktiver Peptide abspaltet, wenn Prolin oder Alanin die benachbarten Reste der N-terminalen Aminosäure in deren Sequenz darstellen. Deshalb wird davon ausgegangen, daß dieses Enzym an der Regulation von Polypeptiden in vivo beteiligt ist (Vanhoof et al., 1995).

Die Glukose-abhängigen insulinotropen Polypeptide: Gastric Inhibitory Polypeptide 1-42 (GIP₁₋₄₂) und Glucagon-Like Peptide Amide-1 7-36 (GLP-1₇₋₃₆), Hormone, die die Glukoseinduzierte Insulinsekretion des Pankreas stimulieren (auch Incretine), sind Substrate der DP IV, da sie von den N-terminalen Sequenzen dieser Peptide die Dipeptide Tyrosinyl-Alanin bzw. Histidyl-Alanin in vitro und in situ abspalten kann (Mentlein et al., 1993).

Die Reduktion derartiger DP IV- bzw. DP IV-analoger Enzymaktivität zur Spaltung solcher Substrate in vivo kann dazu dienen, unerwünschte Enzymaktivität in pathologischen Zuständen von Säuger-Organismen wirksam zu unterdrücken.

Ein entsprechendes Verfahren zur Regulation der Blutglukose in der kausalen Abfolge:

- DP IV-Inhibierung führt zur Stabilisierung der Incretine,
- die verlängerte Lebensdauer der Incretine im Blutkreislauf verstärkt ihre insulinotrope und insulinsensitivierende Wirkung,
- die damit erhöhte und wirksamere Insulinausschüttung zieht eine verstärkte Glukosetoleranz nach sich,

ist bekannt (Demuth et al., 1996).

An diabetischen Ratten wurde nachgewiesen, daß die entsprechenden DP IV-Inhibitoren zur Modulation des dargestellten Regelkreises wirkungsvoll eingesetzt werden können (Pederson et al., 1998).

Um so überraschender ist, daß bei DP IV-defizienten Ratten die Incretine nicht biologisch (durch DP IV) deaktiviert werden. Allerdings zeigen diese Tiere auch keine Anzeichen metabolischer Abnormalität. Offenbar gibt es gegensteuernde Mechanismen, die den Incretineffekt in der späten postprandialen Phase aufwiegen (Pederson et al., 1996).

Als Kandidat für eine derartige Regelfunktion kommt das Peptidhormon Glucagon in Frage. Es weist bei der Regulation der Nahrungsaufnahme eine gegensteuernde Wirkung zum Insulin und damit auch zu den Incretinen auf. Glucagon gehört wie GIP, GLP-1 und GLP-2 zur GRF-Peptidfamilie. Analog zu den Vertretern dieser Hormonfamilie ist der C-Terminus für Selektivität und Affinität zum Rezeptor und die Aminosäuren des N-Terminus für die Signalisierung verantwortlich.

Obwohl die Sequenz des Glucagons N-terminal mit den Aminosäuren His-Ser-Gln-Gly-... beginnt, war völlig unerwartet, daß die prolinspezifische Dipeptidyl Peptidase IV ebenfalls für die biologische Deaktivierung des Glucagons in

vitro und in situ verantwortlich ist (Abb. 1).

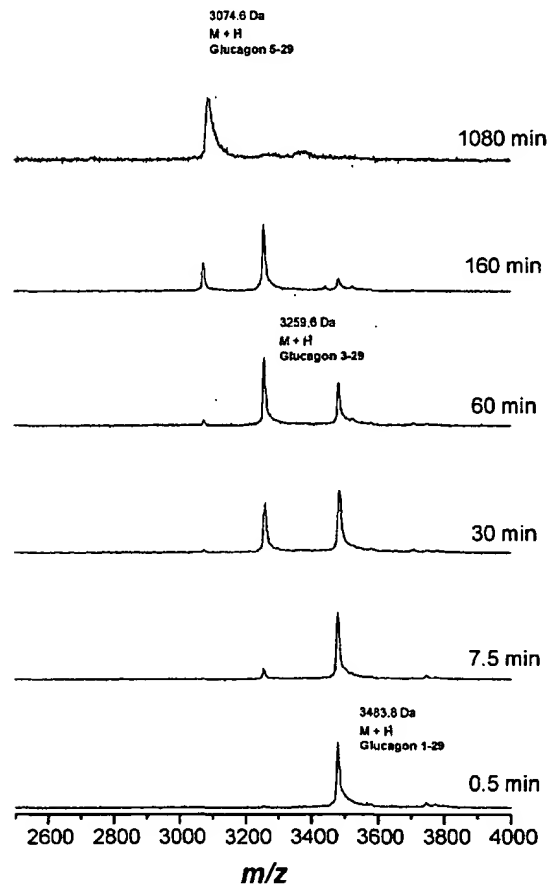
Damit eröffnet sich die Möglichkeit, durch Beeinflussung der DP IV-Aktivität die Freisetzung endogener Speicherglucose aus Glycogen mittels Glucagon zu befördern.

Der Erfindung liegt der überraschende Befund zugrunde, daß eine Reduktion der im Blutkreislauf agierenden DP IV- oder DP IV-ähnlichen enzymatischen Aktivität kausal zur Beeinflussung des Blutzuckerspiegels führt. Es wurde gefunden, daß

1. die Verminderung von DP IV- bzw. DP IV-analoger Aktivität eine Stabilitätserhöhung exogen zugeführten Glucagons zur Folge hat, d. h. durch Applikation von Effektoren der DP IV bzw. DP IV-analoger Proteine der Glucagon-Abbau im Blut kontrolliert werden kann.
2. die durch Reduktion von DP IV- bzw. DP IV-analoger enzymatischer Aktivität im Blut erzielte Stabilitätserhöhung des endogen zirkulierenden oder extern zugeführten Glucagon resultiert und damit zu einer mittels DP IV-Effektoren kontrollierbaren Modulation des Blut-Glukosespiegels führt.

Abb. 1

MALDI-TOF Massenspektren einer 0.14 mM Glucagonlösung in 40 mM TRIS/HCl (pH = 7,6) in Gegenwart von 40 nM DP IV (Sequentiell erfolgt die Abspaltung der Dipeptide His-Ser und Gln-Gly in Abhängigkeit von der Inkubationszeit.)



Die Erfindung betrifft somit die Verwendung von Effektoren der Dipeptidyl Peptidase VI (DP IV)- bzw. DP IV-analoger Enzymaktivität zur Erhöhung des Blutzuckerspiegels über die für Hypoglycaemie charakteristische Glukosekonzentration im Serum eines Säuger-Organismus hinaus.

Insbesondere betrifft die Erfindung die Verwendung von Effektoren der DP IV- bzw. der DP IV-analogen Enzymaktivität an Säugern der Verhinderung oder Milderung pathologischer Stoffwechsel-Anomalien von Säuger-Organismen ausgewählt aus akuter oder chronischer Hypoglycaemie, bei denen es nötig ist, Kohlehydratreserven der Leber rasch zu mobilisieren.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Steigerung des Blutzuckerspiegels über die für Hyperglycaemie charakteristische Glukosekonzentration im Serum eines Säuger-Organismus, das dadurch gekennzeichnet ist, daß man einem Säuger-Organismus eine therapeutisch wirksame Menge eines Effektors der DP IV- bzw. der DP IV-analogen Enzymaktivität verabreicht.

Der bedeutende Vorteil besteht in der geringeren Belastung des Organismus durch zu hohe externe Hormongaben, da die DP IV-Inhibitoren die typische Menge von von verabreichtem oder endogen freigesetztem Glucagon von 2 pM-200

pM vor zu schnellem proteolytischem, Abbau schützen.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform betrifft die Erfindung Effektoren der DP IV- bzw. der DP IV-analogen Enzymaktivität zur Anwendung in einem Verfahren zur Steigerung des Blutzucker-Spiegels über die für Hyperglycaemie charakteristische Glukose-Konzentration im Serum eines Säuger-Organismus hinaus.

- 5 Die erfindungsgemäß applizierten Effektoren der DP IV- bzw. DP IV-analoger Enzyme können in pharmazeutisch anwendbaren Formulierungskomplexen als Inhibitoren, Substrate, Pseudosubstrate, Inhibitoren der DP IV-Expression, Bindungsproteine oder Antikörper dieser Enzymproteine oder Kombinationen aus diesen verschiedenen Stoffen, die DP IV- bzw. DP IV-analoge Proteinkonzentration im Säugerorganismus reduzieren, zum Einsatz kommen. Erfindungsgemäße Effektoren sind z. B. DP IV-Inhibitoren wie die Dipeptidderivate bzw. Dipeptidmimetika Alanyl-Pyrolidid, Isoleucyl-Thiazolidid sowie das Pseudosubstrat N-Valyl-Prolyl, O-Benzoyl Hydroxylamin. Derartige Verbindungen sind aus der Literatur bekannt oder in Analogie zu den in der Literatur beschriebenen Methoden herstellbar (Demuth, 1990).

Das erfindungsgemäße Verfahren stellt eine neuartige Herangehensweise zur Erhöhung erniedrigter Blutglukosekonzentration im Serum von Säugern dar. Es ist einfach, kommerziell nutzbar und zur Anwendung bei der Therapie, insbesondere von Erkrankungen, die auf unterdurchschnittlichen Blutglukosewerten basieren, in der Humanmedizin geeignet.

- 15 Die Effektoren werden in Form von pharmazeutischen Präparaten enthaltend den Wirkstoff in Kombination mit üblichen aus dem Stand der Technik bekannten Trägermaterialien verabreicht. Beispielsweise werden sie parenteral (z. B. i.v., in physiologischer Kochsalzlösung) oder enteral (z. B. oral, formuliert mit üblichen Trägermaterialien wie z. B. Glukose) appliziert.

- 20 In Abhängigkeit von ihrer endogenen Stabilität und ihrer Bioverfügbarkeit müssen einfache oder auch mehrfache Gaben der Effektoren erfolgen, um die erwünschte Normalisierung der Blutglukosewerte zu erreichen. Z. B. kann im Falle von Aminoacyl-Thiazolididen ein solcher Dosisbereich zwischen 0.1 mg und 10 mg Effektorsubstanz pro Kilogramm liegen.

Ausführungsbeispiele:

Beispiel 1

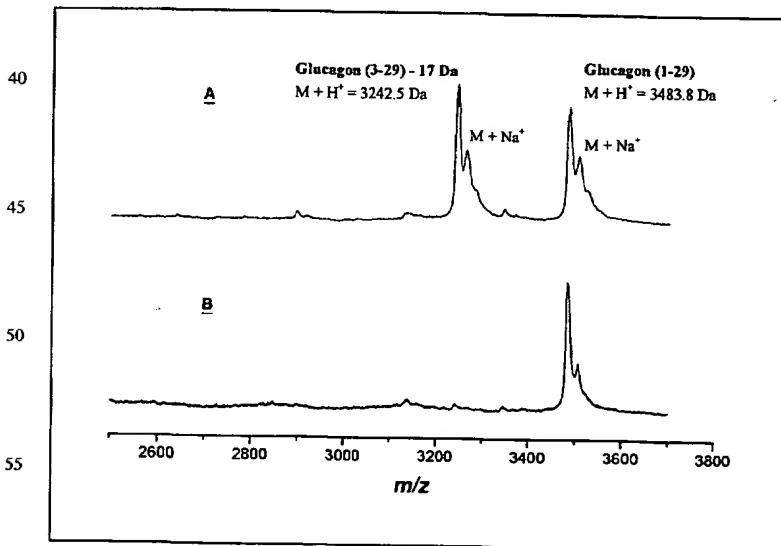
Hemmung der Serum-DP IV- katalysierten Glucagonspaltung durch den DP IV-Inhibitor Isoleucyl-Thiazolidid

Abb. 2

MALDI-TOF Massenspektren einer Glucagon-Serum-Mischung

A – Serum-DP IV hydrolysiert Glucagon

B – Suppression der DP IV-katalysierten Glucagonhydrolyse durch den DP-Inhibitor Isoleucyl-Thiazolidid



- 60 Im Gegensatz zur bisher nur in vitro nachgewiesenen Spaltung von Glucagon durch Dipeptidyl Peptidase I (DP I) konnte ein signifikanter Einfluß auf die Glucagonspaltung durch diese Enzymaktivität weder in situ noch in vivo nachgewiesen werden (McDonald, 1971, 1977).

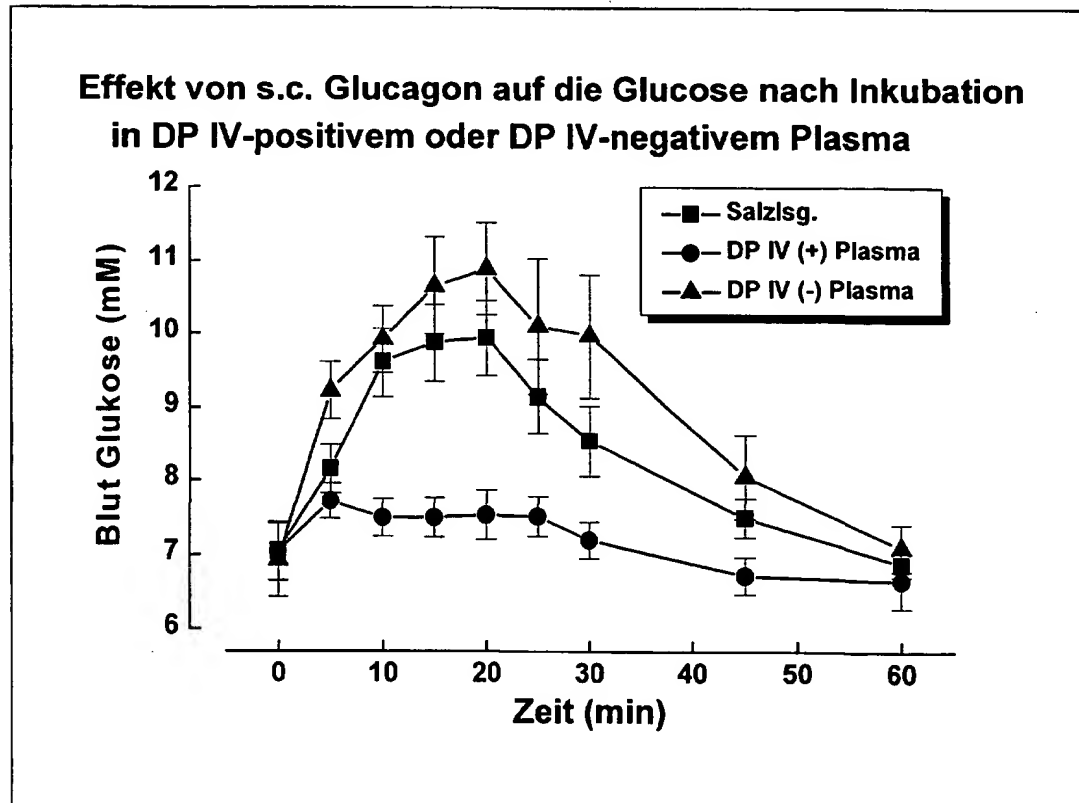
Beispiel 2

Effekt von Glucagon auf die endogene Glukosefreisetzung nach Inkubation in Plasma von DP IV-positiven und DP IV-negativen Ratten

Um zu prüfen, ob die Glucagon-abbauende Aktivität im Plasma von DP IV-negative Ratten vorhanden ist, wurden 6.8 µg Glucagon für drei Stunden bei 37°C in 1.0 ml Plasma normaler, DP IV-positiver, Ratten oder in 1.0 ml Plasma DP IV-negativer vorinkubiert. 10–50 µl der Inkubationslösung wurden normalen Wistar Ratten i.v. injiziert und mit einer Salzkontrolle verglichen. Die biologische Antwort – d. h. die Zunahme der Blutglukose durch die Glucagon-stimulierte hepatische Glukose-Freisetzung wurde 60 min verfolgt (Abb. 3).

Abb. 3

Effekt von Glucagon auf die endogene Glucose-Freisetzung in der Wistar Ratte nach i.v. Injektion von Glucagon, präinkubiert in Plasma DP IV-positiver und DP IV-negativer Ratten



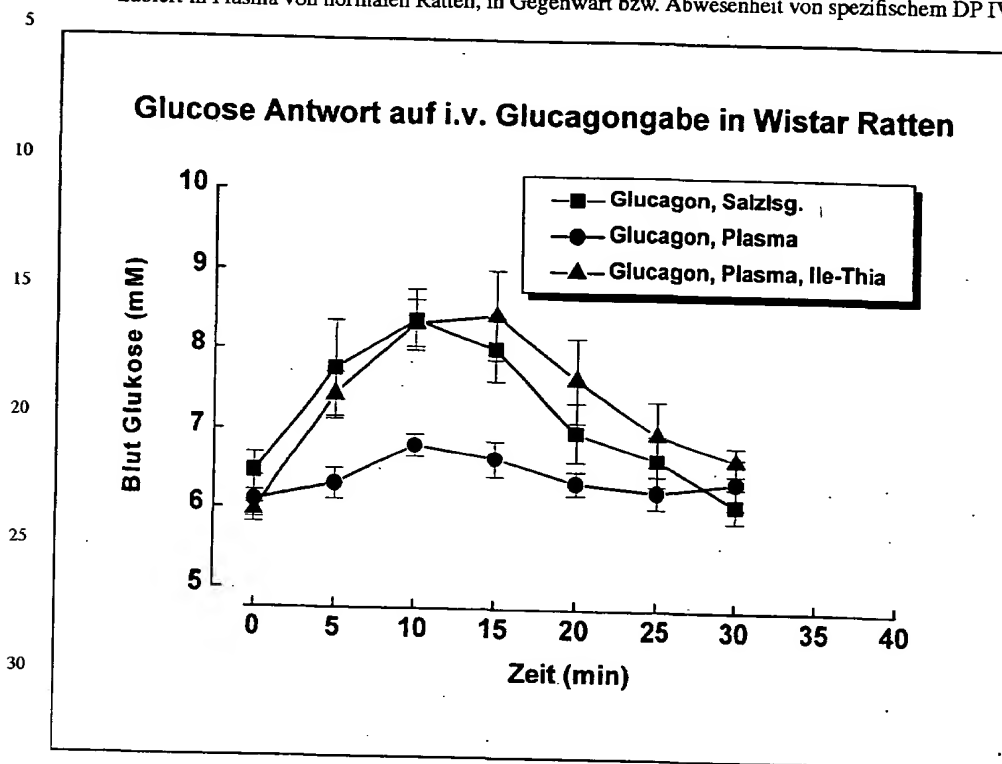
Beispiel 3

Effekt von Glucagon auf die Glucose Antwort in Wistar Ratten nach i.v. Injektion von vorinkubiertem Glucagon im Plasma einer normalen Ratte, in Gegenwart und Abwesenheit von DP IV-Inhibitor

Um zu prüfen, ob der Effekt der Glucagon-abbauenden Aktivität in Plasma durch einen spezifischen DP IV-Inhibitor inhibiert werden kann, wurden 6.8 µg Glucagon für drei Stunden bei 37°C in 1.0 ml normalen Ratten Plasma oder in 1.0 ml of Plasma, das 0,01 mM Isoleucyl-Thiazolidid enthält inkubiert. 10–50 µl der Inkubationslösung wurden normalen Wistar Ratten i.v. injiziert und mit einer Salzkontrolle verglichen. Die biologische Antwort – d. h. die Zunahme der Blutglukose durch die Glucagon-stimulierte hepatische Glukose-Freisetzung wurde 30 min verfolgt (Abb. 4).

Abb. 4

Effekt von Glucagon auf die endogene Glucose-Freisetzung in der Wistar Ratte nach i.v. Injektion von Glucagon, präinkubiert in Plasma von normalen Ratten, in Gegenwart bzw. Abwesenheit von spezifischem DP IV-Inhibitor



35

Literaturverzeichnis

- Ansorge, S., Schön, E., and Kunz, D. (1991). Membrane-bound peptidases of lymphocytes: functional implications. *Bio-med. Biochim. Acta* 50, 799-807.
- 40 Demuth, H.-U. (1990) Recent developments in the irreversible inhibition of serine and cysteine proteases. *J Enzyme Inhibition* 3, 249-280.
- Demuth, H.-U., Rosche, F., Schmidt, J., Pauly, R.P., McIntosh, C.H.S. and Pederson, R.A. (1996). Verfahren zur Steigerung des Blutglukosespiegels in Säugern. DE 196 16 486.
- Dodge, R.W. & Scheraga, H.A. (1996). Folding and unfolding kinetics of the proline-to-alanine mutants of bovine pancreatic ribonuclease A. *Biochemistry* 35, 1548-1559.
- 45 Gomez, S., Gluschankof, P., Lepage, A., and Cohen, P. (1988). Relationship between endoand exopeptidases in a processing enzyme system: activation of an endoprotease by the aminopeptidase B-like activity in somatostatin-28 convertase. *Proc Natl Acad Sci USA* 85, 5468-5472.
- Hegen, M., Niedobitek, G., Klein, C.E., Stein, H., and Fleischer, B. (1990). The T cell triggering molecule Tp 103 is associated with dipeptidyl aminopeptidase IV activity. *J. Immunology* 144, 2908-2914.
- 50 Ishiura, S., Tsukahara, T., Tabira, T., Shimizu, T., Arahata, K., and Sugita H. (1990). Identification of a putative amyloid A4-generating enzyme as a prolyl endopeptidase *FEBS-Letters* 260, 131-134.
- Kräusslich, H.-G. and Wimmer, E. (1987). Viral Proteinases. *Ann. Rev. Biochem.* 57, 701 Kessler, H. (1982). Konformation und biologische Wirkung von zyklischen Peptiden. *Angew. Chem.* 94, 509-520.
- 55 Mentlein, R., Gallwitz, B., and Schmidt, W.E. (1993). Dipeptidyl Peptidase IV hydrolyzes gastric inhibitory polypeptide, glucagon-like peptide-1(7-36)amide, peptide histidine methionine and is responsible for their degradation in human serum. *Eur. J. Biochem.* 214, 829-835.
- McDonald, J.K., Callahan, P.X., Ellis, S., and Smith, R.E. (1971). Polypeptide degradation by dipeptidyl aminopeptidase I (cathepsin C) and related peptidases. In: *Tissue Proteinases* (Barrett, A.J. & Dingle, J.T., eds). Amsterdam: North-Holland Publishing, pp. 69-107.
- 60 McDonald J.K. & Schwabe, C. (1977) Intracellular exopeptidases. In: *Proteinases in Mammalian Cells and Tissues* (Barrett, A.J., ed.). Amsterdam: North Holland Publishing, pp. 311-391.
- Pederson, R.A., Kieffer, T.J., Pauly, R., Kofod, H., Kwong, J., and McIntosh, C.H.S. (1996). The enteroinsular axis in dipeptidyl peptidase IV - negative rats. *Metabolism* 45, 1335-1341.
- 65 Pederson, R.A., White, H.A., Schlenzig, D., Pauly, R.P., McIntosh, C.H.S., and Demuth, H.-U. (1998). Improved glucose tolerance in Zucker fatty rats treated by oral administration of the dipeptidyl peptidase IV inhibitor isoleucyl thiazolidide. *Diabetes* 47, 1253-1258.
- Vanhoof G., Goossens, F., De Meester, I., Hendriks, D., and Scharpé, S. (1995). Proline motifs and their biological pro-

cessing. FASEB Journal 9, 736-744.

Walter, R., Simmons, W.H., and Yoshimoto, T. (1980). Proline Specific Endo- and Exopeptidases. Mol. Cell. Biochem. 30, 111-127.

Yaron, A. and Naider, F. (1993). Proline-dependent structural and biological properties of peptides and proteins. Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. 28(1), 31-38.

5

Patentansprüche

1. Verwendung von aktivitätsmindernden Effektoren der Dipeptidyl Peptidase (DP IV)- bzw. DP IV-analoger Enzymaktivität zur Erhöhung des Blutzuckerspiegels über die für Hypoglycaemie charakteristische Glukosekonzentration im Serum eines Säuger-Organismus. 10
2. Verwendung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Verabreichung von Effektoren der DP IV- bzw. der DP IV-analogen Enzymaktivität an Säuger der Verhinderung oder Milderung pathologischer Stoffwechsel-Anomalien von Säuger-Organismen vorzugsweise hypoglycaemischer Zustände dient.
3. Verwendung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als Effektoren der Dipeptidyl Peptidase (DP IV)- bzw. DP IV-analoger Enzymaktivität Inhibitoren, Substrate, Pseudosubstrate, Inhibitoren der DP IV-Expression, Bindungsproteine oder Antikörper dieser Enzymproteine oder Kombinationen der genannten Effektoren verwendet werden. 15
4. Effektoren der DP IV- bzw. der DP IV-analogen Enzymaktivität zur Anwendung in einem Verfahren zur Steigerung des Blutzucker-Spiegels über die für Hypoglycaemie charakteristische Glukose-Konzentration im Serum eines Säuger-Organismus. 20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

- Leerseite -